TP N°: 05

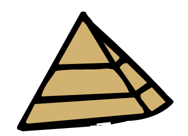
Colorations spéciales

Dr. LOUNAS A.

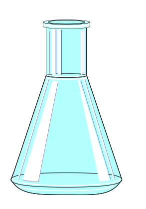


Coloration de Ziehl-Neelsen « Mycobactéries »

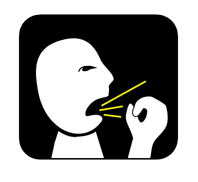
Tuberculose : Historique



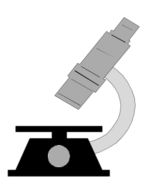
Existe depuis ***2000 à 4000 avant J.C.***



1819 : René Laennec décrit la maladie



1865 : Jean-Antoine Villemin montre que la maladie est transmissible et contagieuse

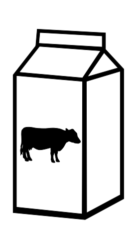


1882 : Robert Koch identifie le Bacille de Koch

1890 : Robert Koch décrit l'immunité antituberculeuse



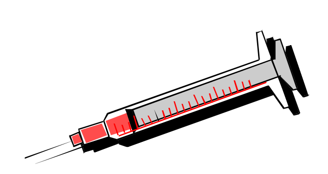
Tuberculose : Historique



1908 : Albert Calmette propose
la **pasteurisation du lait**

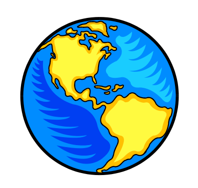


1908 : Albert Calmette réalise
la **première vaccination**

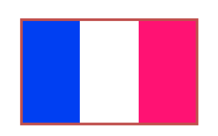


1947 : la **Streptomycine** guérit les premiers malades

Tuberculose en Chiffres



8 millions de nouveaux cas/an
2,9 millions de décès/an
7 % des cause de décès



9000 nouveaux cas/an
1000 morts/an



Plus de diminution dans les pays industrialisés
Émergence des tuberculoses multirésistantes
Mortalité de 40 % à 60 %

Bactérie responsable : MYCOBACTERIUM

Complexe Tuberculosis « Tuberculose »

- **M. tuberculosis (humain)**
  - **M. bovis (humain et bovin)**
  - **M. africanum (humain)**
  - **M. Bovis B.C.G**

Lèpre

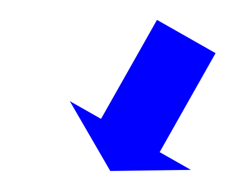
- **M. Leprae**

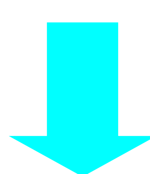
Mycobactéries atypiques

- **MOTT**
- **MAMT**
- **MNT**

Tuberculose

Bacille de Koch



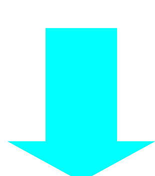


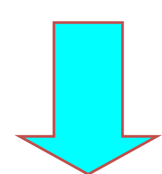


Élimination des bacilles

Multiplication des bacilles

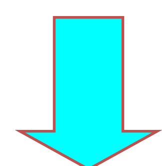
Multiplication des bacilles

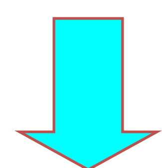




Tuberculose infection

Des bacilles dormants



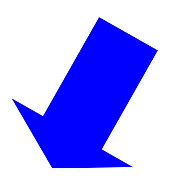


Tuberculose

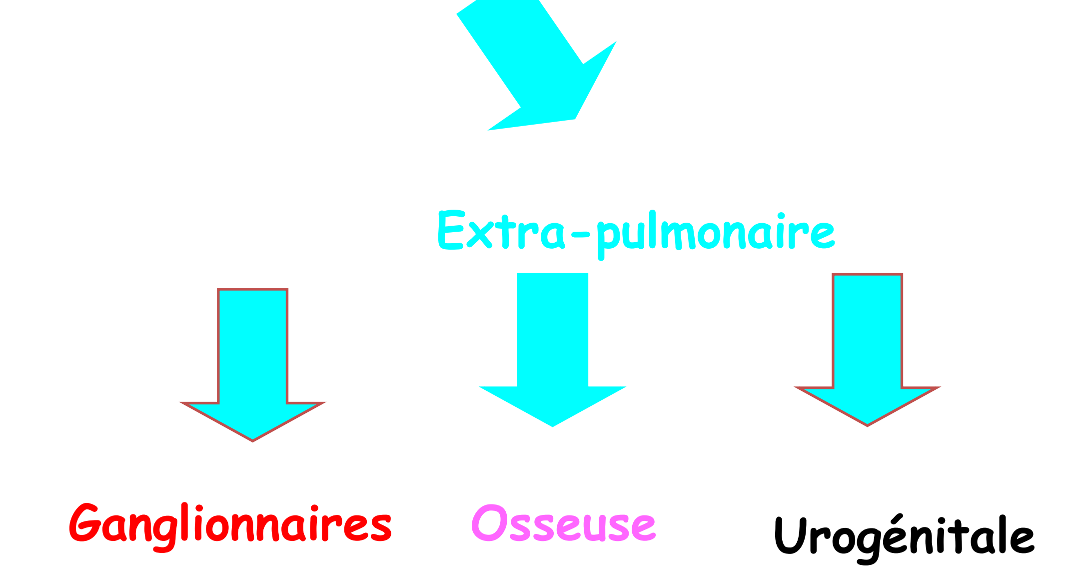
Tuberculose réactivation

Tuberculose

Bacille de Koch

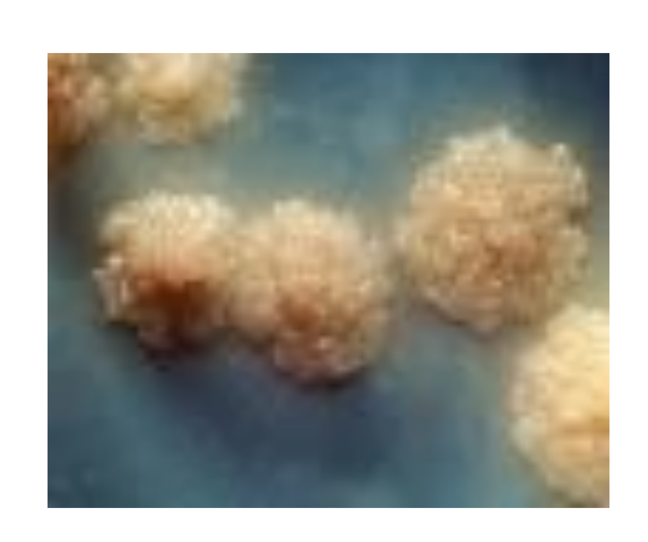


Pleuro-
pulmonaire :
70% des cas



Au laboratoire

1. Mise en Culture

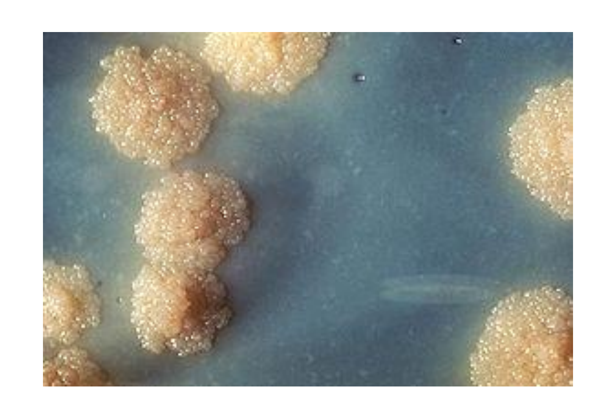


- . Lab Type III
- . Aérobies strictes
- . Croissance **LENTE** (division toutes les 20h / E.Coli toutes les 20 mn)
- . **EXIGENTE** (croissance impossible dans le milieu extérieur)
- . Milieux d'enrichissement liquides (Ex : Kirchner)
- . Milieux d'isolement solides (LÖWENSTEIN-JENSEN, COLETSOS….).
- . **Colonies** : selon les espèces des Mycobactéries et les milieux de cultures

LÖWENSTEIN-JENSEN :

.. M.bovis : petites colonies, non pigmentées, lisses et briallantes qui ne grossissent pas.

.. M. tuberculosis : en 21 à 28 jours, grosses colonies en « chou-fleur », de teinte crème-beige, à surface sèche et rugueuse.



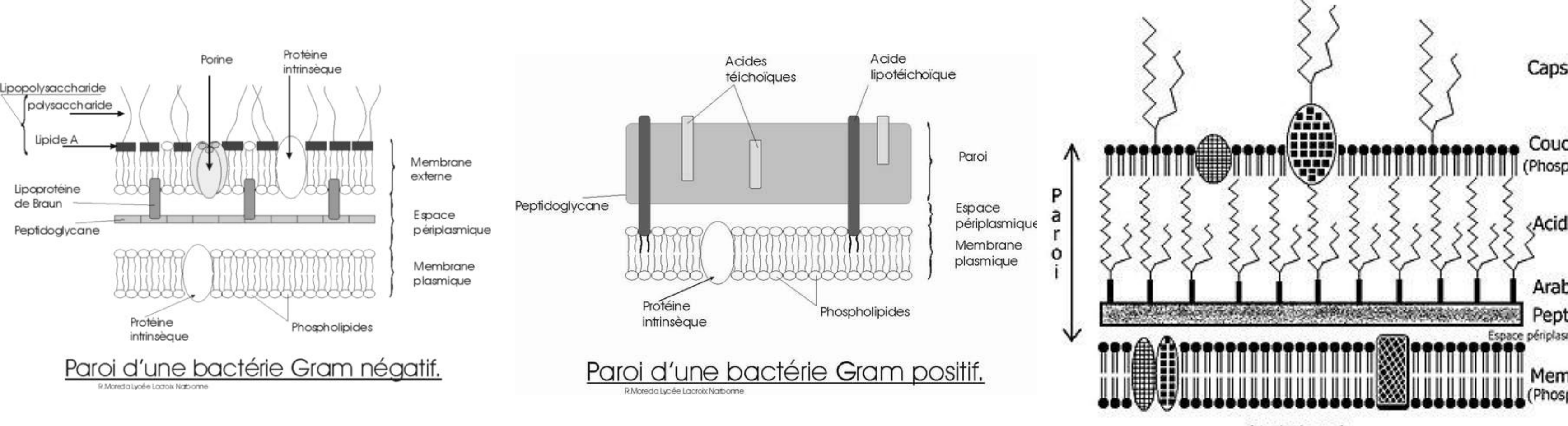
Au laboratoire

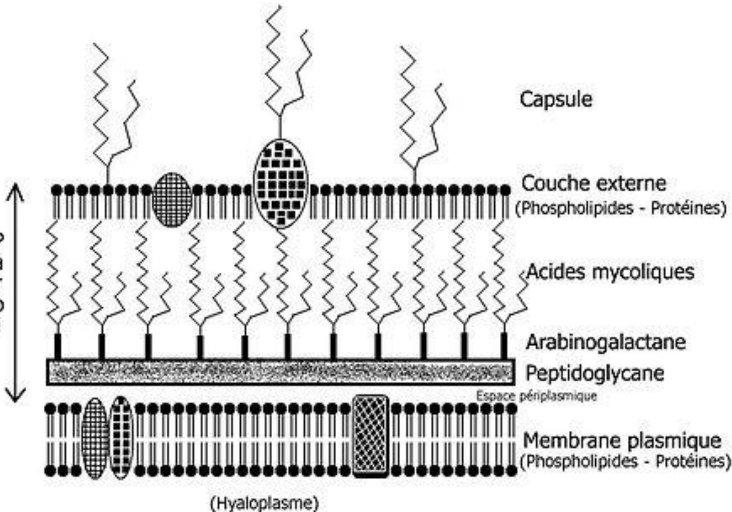
2. Observation Microscopique (Coloration de Gram):

- ✓. Forme rectiligne plus ou moins incurvée à extrémités arrondies
- ✓. Bacilles à Gram positif
- ✓. Coloration acido-alcoolo-résistante (coloration de Ziehl-Neelsen…) : **BAAR**

Mycobactéries : BAAR

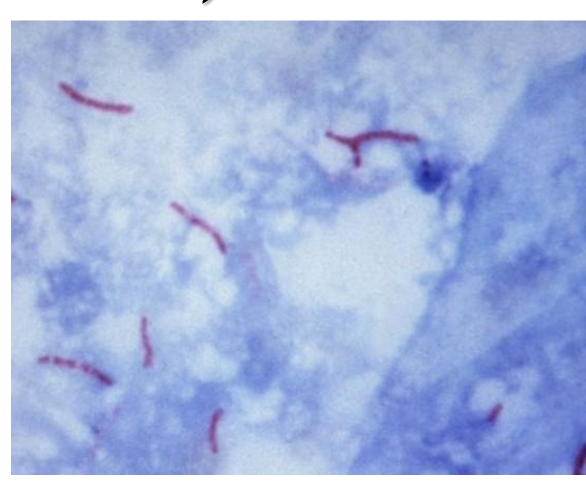
Paroi très riche en lipide : 60%
. Acides mycoliques
. Mycosides



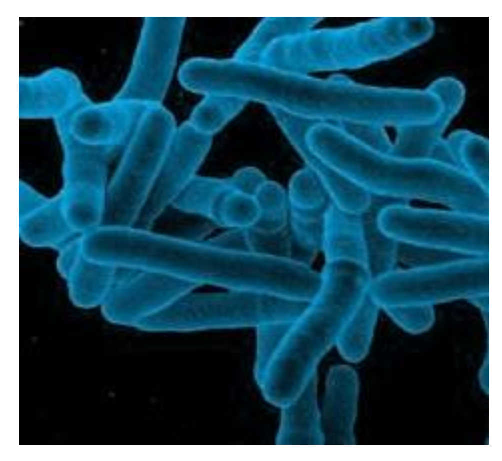


Au laboratoire

2. Observation Microscopique (Coloration de Ziehl-Neelsen):



- . **Préparation, séchage et fixation du frottis sur la lame**
- **. Coloration du frottis :**
  - Coloration par la **Fuchsine phéniquée** : Chauffer la lame trois fois
  - Décoloration par l'**acide sulfurique à 25%** : 3 Min
  - Décoloration par l'**alcool à 90°** : 5 Min
  - Recoloration par le **bleu de méthylène** : 30 secondes
- **. Observation au microscope optique :**
  - Objectif à immersion
  - Bacilles de Koch : rectilignes ou un peu incurvés à extrémités arrondies, colorés en rouge sur un fond bleu.
  - Les autres bactéries se colorent en bleu



Au laboratoire

MYCOBACTERIUM	Autres bact	
Rouge	Rouge	Fuchsine phéniquée
Rouge	Décolorée	Acide sulfurique à 25%
Rouge	Décolorée	Alcool à 90°
Rouge	Bleu	Bleu de méthylène



Coloration de Stamp « Brucella »

Généralités

Brucellose : Zoonose

- Transmissible de l'animale à l'homme et vice-versa

Maladie infectieuse et contagieuse « Brucella spp »

- Chez les espèces sensibles

Noms divers : Fièvre de Malte, Fièvre ondulante (Chez l'Homme), fièvre méditerranéenne, mélitococcie, avortement épizootique des bovidés…etc

- Selon les pays ??

Symptômes
« Animal »

Avortement

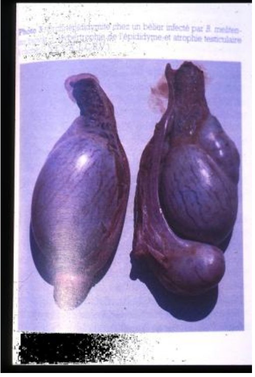
- Chez la femelle





Orchi-épididymites

- Chez le mâle



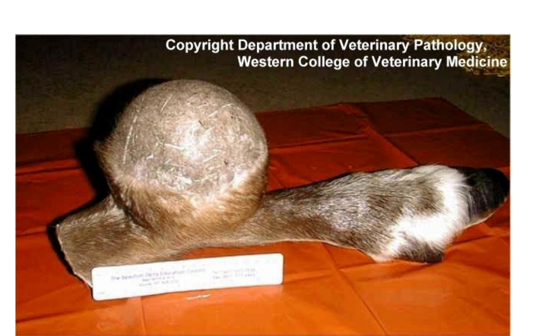


Arthrites, hygromas



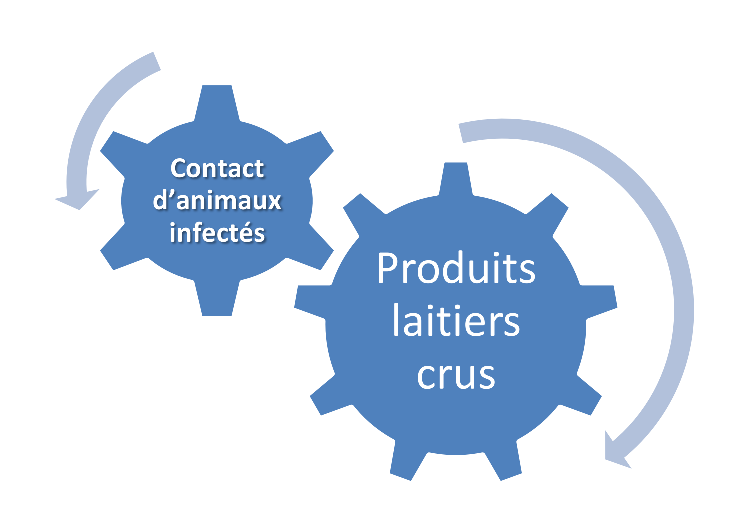
« Rare »

- Chez les deux sexes

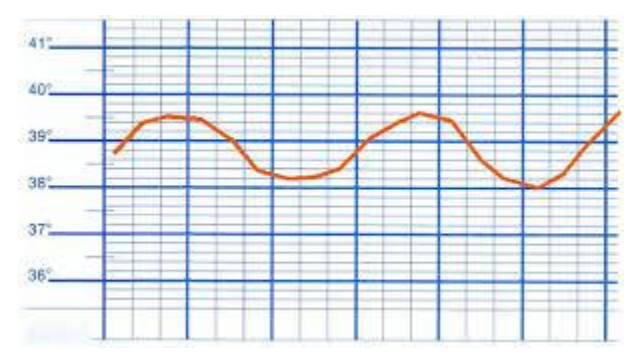


Contamination de l'homme

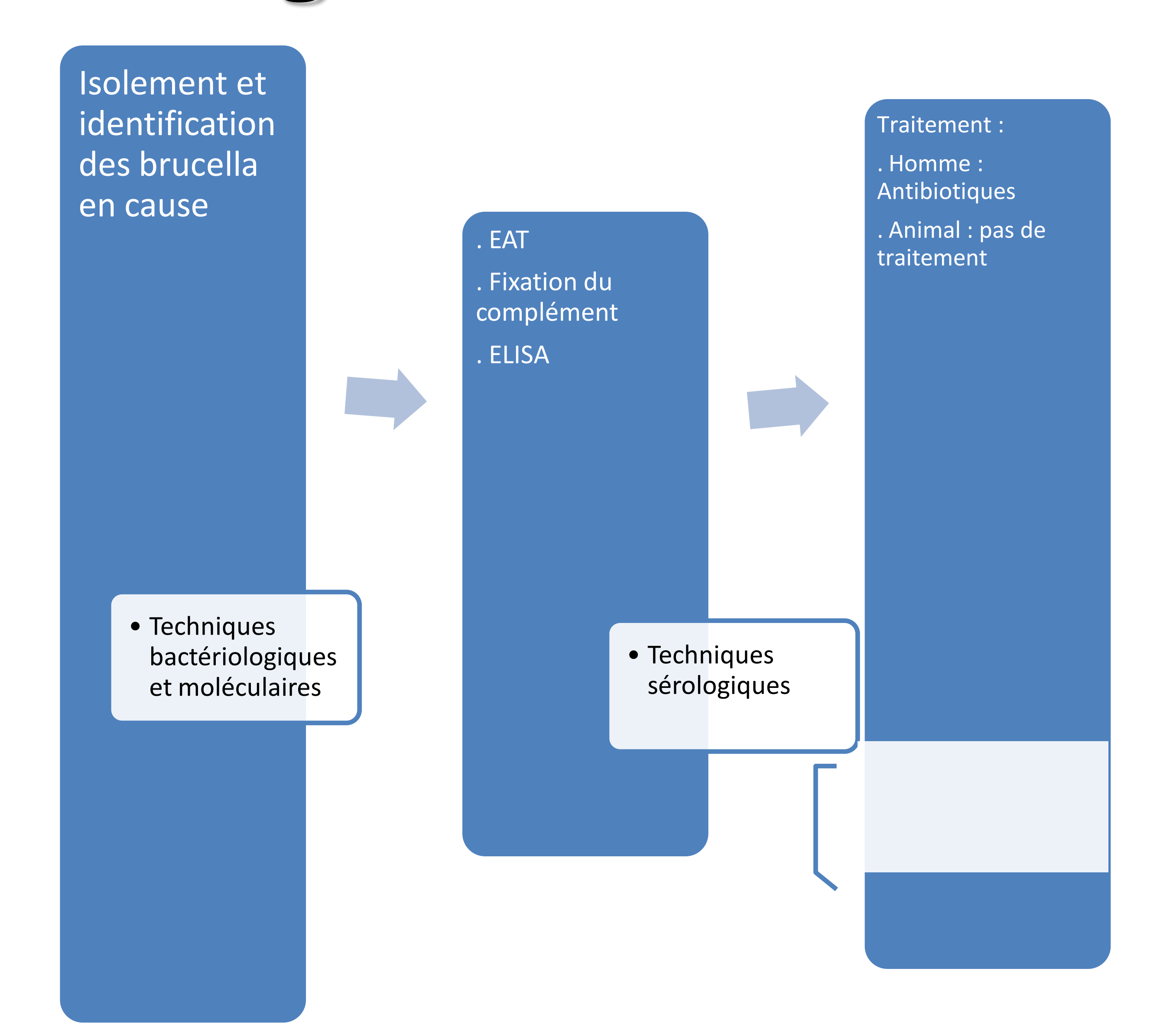








Diagnostic-Traitement

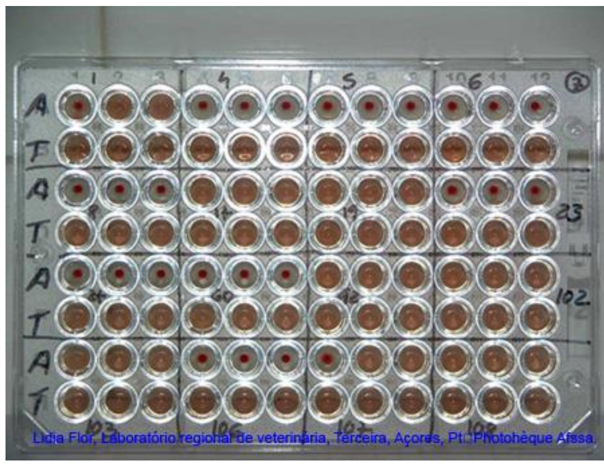


Surveillance-contrôle « En Algérie »

Surveillance sérologique
« Bovins »

Abattage des animaux ou troupeaux infectés ou exposés
« Bovins »

Vaccination généralisée des animaux sensibles
« Ovins + Caprins »





Prélèvements









- Avorton
- Enveloppes fœtales



.Sang

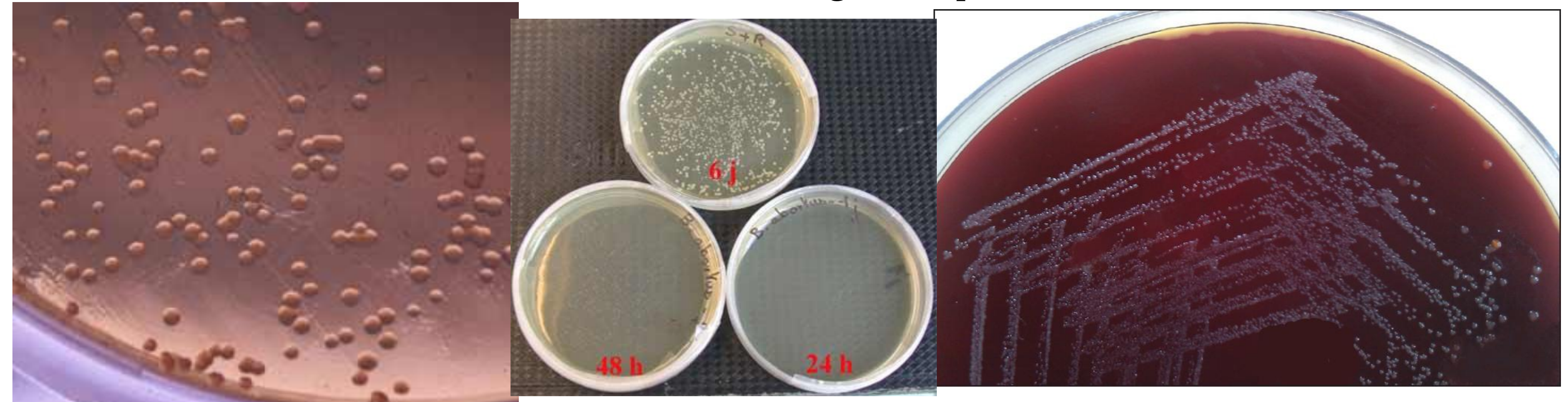


Transport

Au laboratoire

1. Mise en Culture

- . Lab Type III
- . Aérobies strictes
- . Certaines souches **exigent CO_2** (*B.abortus*)
- . Culture **lente** (48h à 4 jours en bouillon, à 34°C Pd 2-3 semaines sur GS)
- . Milieux enrichis (GS frais de mouton, gélose glucosée au sérum, gélose chocolat supplémentée….).
- . Milieux sélectifs par additions d'ATB (Ex : Milieu de Farrell)
- **. Colonies :** Translucides, rondes à bords réguliers, petites



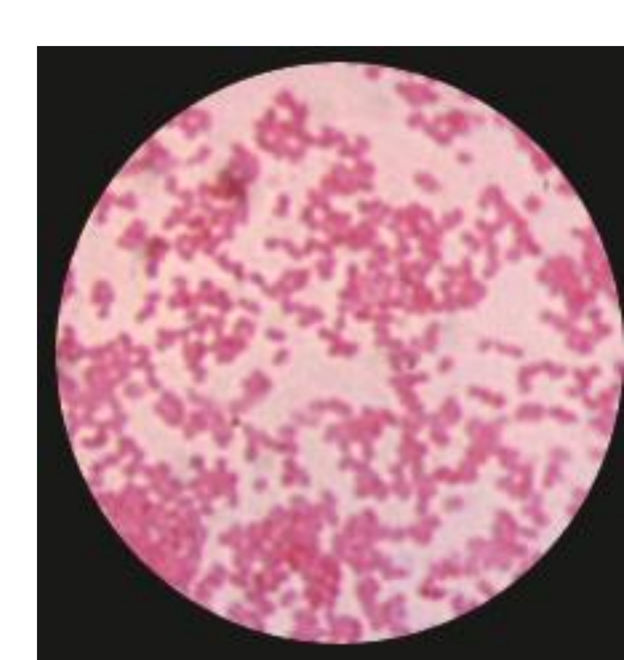
Au laboratoire

2. Observation Microscopique (Etat frais):

- Immobiles, ils sont animés de forts mouvements browniens pouvant conduire à détecter une fausse mobilité.

3. Observation Microscopique (Coloration de Gram):

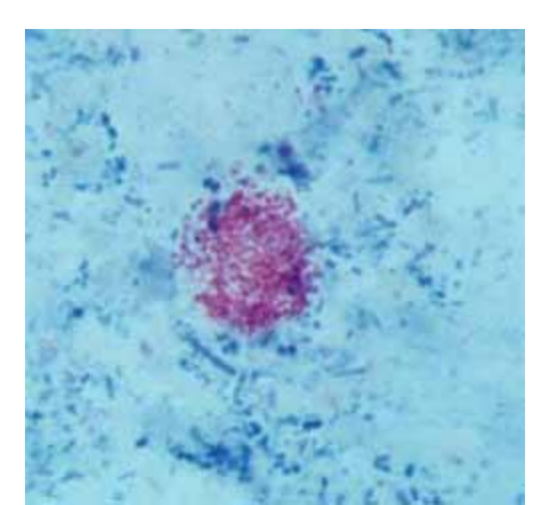
- . Petits coccobacilles à Gram négatif
- . Coloration acido-résistante (Stamp, Kôster, Machiavello…) : **BAR**



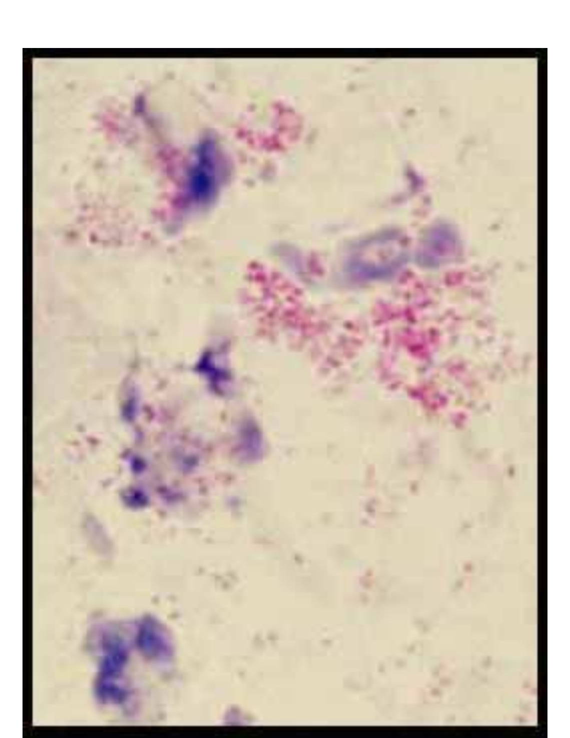
Au laboratoire

4. Observation Microscopique (Coloration de STAMP):

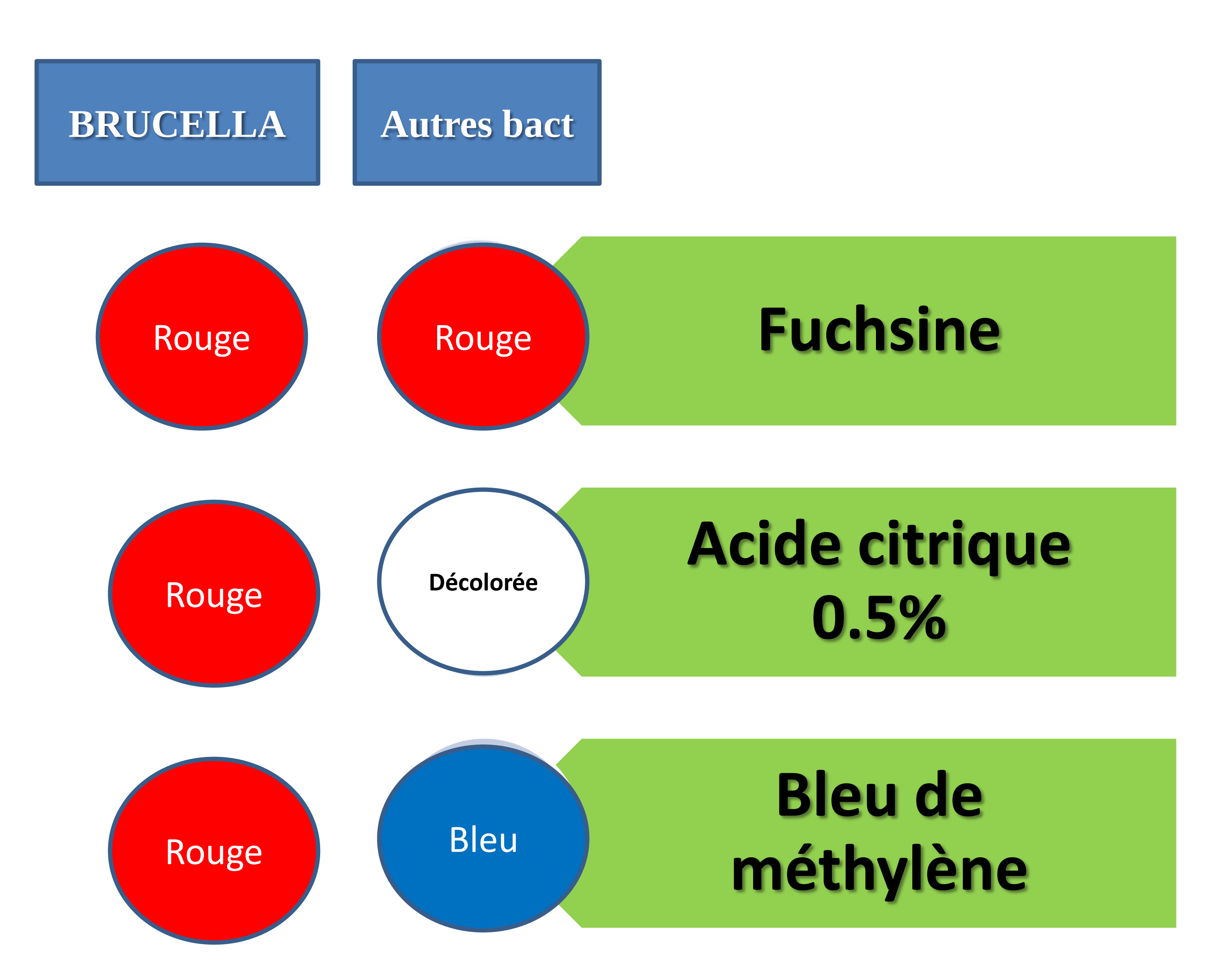
- . **Préparation, séchage et fixation du frottis sur la lame**
- **. Coloration du frottis :**
  - Coloration par la **Fuchsine** : 5 Min
  - Décoloration par l'**acide citrique à 0.5%** : qq secondes
  - Recoloration par le **bleu de méthylène** : 30 secondes
- **. Observation au microscope optique :**
  - Objectif à immersion
  - **Brucella** : rouge vif sur fond bleu







Au laboratoire




Merci